



CRISTIANE RIBEIRO SALMON

Cirurgiã-dentista

*REMODELAÇÃO ÓSSEA DO PERIODONTO DE INCISIVO DE  
RATO EM ERUPÇÃO NORMAL E ALTERADA: ESTUDO COM  
MARCADORES FLUORESCENTES.*

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia  
de Piracicaba, da Universidade Estadual de  
Campinas, para obtenção do Título de Mestre em  
Biologia Buco-Dental, Área de Histologia.

PIRACICABA

2004

CRISTIANE RIBEIRO SALMON

*REMODELAÇÃO ÓSSEA DO PERIODONTO DE INCISIVO DE  
RATO EM ERUPÇÃO NORMAL E ALTERADA: ESTUDO COM  
MARCADORES FLUORESCENTES.*

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia  
de Piracicaba, da Universidade Estadual de  
Campinas, para obtenção do Título de Mestre em  
Biologia Buco-Dental, Área de Histologia.

Orientador: Prof. Dr. Pedro Duarte Novaes

Banca Examinadora:  
Prof. Dr. Antônio Wilson de Almeida  
Prof. Dr. José Merzel  
Prof. Dr. Pedro Duarte Novaes

PIRACICABA

2004





Aos meus queridos pais, Adolfo e Nadyr,

que com tanto carinho e amor

guiaram-me durante toda a vida,

ensinando, cuidando, compreendendo

e apoiando em todos os momentos,

dedico este trabalho.

### **AGRADECIMENTO ESPECIAL**

Ao Professor Doutor Pedro Duarte Novaes, meu orientador, que com paciência e dedicação conduziu este trabalho, possibilitando meu crescimento profissional. Obrigada pelo exemplo, incentivo e compreensão.

## AGRADECIMENTOS

À Faculdade de Odontologia de Piracicaba-UNICAMP, na pessoa do seu **DD. Diretor Professor Doutor Thales Rocha**, onde tive a oportunidade de dar um importante rumo ao crescimento científico e profissional.

À coordenadora do Programa de Pós-graduação **Prof. Dra. Silvana Pereira Barros**, agradeço o apoio.

Ao **Professor Doutor José Merzel**, professor do Departamento de Morfologia da FOP-UNICAMP, agradeço pela prestimosa ajuda que tanto acrescentou a este trabalho e pela atenção dedicada em todos os momentos.

À **Professora Doutora Darcy de Oliveira Tosello** e ao **Professor Doutor Sérgio R.P. Line**, pelo apoio e senso crítico.

Ao **Professor Doutor Antônio Wilson de Almeida**, professor de Histologia aposentado da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Uberlândia, pelo o incentivo constante e exemplo profissional.

À **Professora Doutora Raquel Gerlach**, professora de Histologia da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto –USP, pela atenção e simpatia.

À **CAPES** – Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, pela bolsa a mim concedida, que permitiu o bom andamento desta pesquisa.

Aos colegas do curso de Pós-graduação, **Isabel, Alexandre, Regina, Cris Borges, Marcelo, Crica, Isabela, Daniel, Marcos, Marise, Luciana, Simone**,

agradeço a todos, indistintamente, pelo companheirismo, apoio, e pelos risos que tornaram os dias no laboratório mais alegres.

Aos colegas **Rui, Raquelzinha, Ana Paula e Paula**, pelo incentivo e exemplo que me estimulam a seguir em frente nesse caminho.

À **Silvana Pasetto**, agradeço pela acolhida, por toda a ajuda e estímulo no decorrer do curso e, principalmente pela amizade preciosa.

À Bióloga **Eliene**, pelo auxílio junto ao Laboratório de Microscopia Eletrônica, e pela amizade.

Às técnicas do Laboratório de Histologia, **Cidinha e Ivani**, agradeço a grande ajuda em todas as fases da realização deste trabalho, pelos conselhos e pela alegria que tornaram as horas de trabalho no Laboratório tão agradáveis.

À **Suzete, Joelma e Valquíria** pela atenção junto à secretaria do Departamento de morfologia da FOP-UNICAMP.

Às secretárias da Pós-graduação, **Érica e Sônia**, pelo competente auxílio que possibilitou a conclusão deste curso.

Ao estagiário **Gustavo**, pela ajuda junto ao Laboratório de Histologia.

Ao senhor **Feliciano, Vanderlei e Zuleica** pelo auxílio no manejo e manutenção dos animais.

À **Andréa da Castro Domingos**, pelo apoio, amizade e pelas lições de inglês.



Ao meu irmão **Douglas** e cunhada **Vanessa**, e ao meu querido sobrinho **Rodrigo**, pela família, fonte da minha energia, alegria e amor.

Ao meu primo **Júnior**, pela amizade em todas as horas e pelas boas risadas.

À **Ana Carla**, **Stela** e **Daniela**, pela amizade sincera que mesmo à distância tanto me ajudaram e incentivaram nos momentos mais difíceis.

## *Oração de São Francisco de Assis*

*Ó, Senhor!*

*Faz de mim um instrumento da Tua Paz;  
Onde há ódio, faz que eu leve o Amor;  
Onde há ofensa, que eu leve o Perdão;  
Onde há discórdia, que eu leve a União;  
Onde há dúvidas, que eu leve a Fé;  
Onde há erros, faz que eu leve a Verdade;  
Onde há desespero, que eu leve a Esperança;  
Onde há tristeza, que eu leve a Alegria;  
Onde há trevas, que eu leve a Luz;  
Ó Mestre! Faz que eu procure menos  
Ser consolado, do que consolar;  
Ser compreendido, do que compreender;  
Ser amado, do que amar...  
Portanto;  
É dando que se recebe;  
É perdoando que se é perdoado;  
É morrendo que se vive para a vida eterna.*

## SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS	1
RESUMO	2
ABSTRACT	3
1 INTRODUÇÃO	4
2 MATERIAL E MÉTODOS	8
3 RESULTADOS	12
4 DISCUSSÃO	30
5 CONCLUSÃO	35
REFERÊNCIAS	36
ANEXO	39

## **LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

CAPES	-	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
CEMIB	-	Centro Multidisciplinar de Investigação Científica
D	-	Dentina
E	-	Esmalte
EDTA	-	Ácido Etilenodiaminatretacético
FD	-	Folículo Dental
FOP	-	Faculdade de Odontologia e Piracicaba
LP	-	Ligamento Periodontal
P	-	Polpa
PRE	-	Periodonto Relacionado ao Esmalte
UNICAMP	-	Universidade Estadual de Campinas

## RESUMO

O objetivo desse estudo foi avaliar a remodelação óssea durante a imobilização de incisivos inferiores de rato e durante a recuperação de sua erupção. Trinta e quatro ratos Wistar machos tiveram o seu incisivo inferior esquerdo imobilizado por meio de um fio de aço preso ao 1º molar inferior esquerdo por 18 dias. O dente contralateral foi usado como controle. A taxa de erupção foi medida usando marcas na labial da coroa de ambos os dentes. Os animais receberam três injeções de marcadores ósseos fluorescentes. A primeira, de tetraciclina, foi aplicada 24 horas após o início da contenção; a segunda, de calceína, foi injetada no dia 7 e a terceira, de tetraciclina, no dia 15. Dezoito animais foram sacrificados no 18º dia (grupo A). Os outros 16 animais (grupo B) tiveram a contenção removida e a taxa de erupção foi medida por 74 dias adicionais, e sacrificados no 92º dia de experimento. As hemimandíbulas de 12 ratos do grupo A e dos 16 animais do grupo B foram dissecadas, fixadas em solução de formol 10%, divididas transversalmente em quatro regiões, e incluídas em metacrilato 0,5%. Cortes transversais grossos, 50-100µm, foram examinados por microscopia de fluorescência. Hemimandíbulas de 6 animais do grupo A e foram fixadas em solução de glutaraldeído 2,5%, descalcificadas em EDTA 10% e incluídas em resina JB-4. Secções transversais de 4 µm foram coradas com hematoxilina e eosina. Durante o período de contenção, uma conversão de reabsorção óssea para formação óssea foi observada na face labial interna da metade incisal do alvéolo. Na metade basal dessa face, a reabsorção óssea aumentou e houve formação de tecido dental na direção basal do alvéolo. Os animais que recuperaram sua taxa de erupção normal apresentaram uma remodelação óssea semelhante ao controle. Os animais que não recuperaram a taxa normal de erupção mostraram características de remodelação óssea alterada e algumas lesões em seus tecidos dentais e periodontais, tais como dobras nos tecidos dentais da região basal, anquilose e áreas de reabsorção dental. A remodelação óssea do alvéolo do incisivo de rato parece responder às forças mediadas pelo dente, tais como seu crescimento contínuo e, provavelmente, influenciada pelas alterações dos tecidos dentais e periodontais.

## ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the bone remodelling during the immobilization of the rat lower incisors, and afterwards during the recovery of their eruption. Thirty four male Wistar rats had their left lower incisor immobilized by means of a steel wire attached to the first left lower molar for 18 days. The contralateral tooth was used as control. Eruption rates were measured using landmarks in the labial of the crown on both teeth. The animals received three injections of fluorescent bony markers. The first one, tetracycline was given 24 hours after the beginning of the containment; the second, calcein was injected on day 7 and the third one, tetracycline, on day 15. Eighteen animals were killed on day 18 (group A). The remaining 16 (group B) had the containment removed and their eruption rate was followed for 74 additional days, and they were killed on day 92. The hemimandibles of 12 rats of group A and 16 animals of group B were dissected, fixed in 10% formalin solution, divided in four transversal regions, and embedded in 0,5% methacrylate. Ground cross sections, 50-100µm-thick, were examined by fluorescence microscopy. Hemimandibles of 6 animals of group A were fixed in 2.5% glutaraldehyde solution, decalcified in 10% EDTA and embedded in JB-4 resin. Cross sections, 4 µm-thick, were stained with hematoxin and eosin. During the period of containment, a conversion from bone resorption to bone formation was observed in the inner labial face of the incisal half of the socket. The basal half of this face, bone resorption was increased and dental tissue formation was seen in the basal direction of the socket. The animals that recovered their normal eruption rate presented a bone remodelling picture similar to the control. The animals that did not recover a normal eruption rate, showed altered bone remodelling features and some lesions on their dental and periodontal tissues, such as folds, in the basal dental tissues, ankylosis, and areas of dental resorption. The bone remodelling process of the rat incisor sockets seems to respond to forces that act through the tooth, such as its continuous growth and probably influenced by alterations of the dental and periodontal tissues.

## 1 INTRODUÇÃO

A erupção dental é um processo complexo pelo qual o dente, desenvolvendo sua coroa, se move através do osso alveolar para a sua posição funcional na cavidade oral, ao mesmo tempo em que ocorre o desenvolvimento e crescimento da raiz.

Muitos estudos sobre erupção dental utilizam o incisivo de rato como modelo, porque várias alterações dos fatores ligados ao movimento eruptivo podem ser facilmente produzidas nesses dentes, permitindo a observação da resposta dos tecidos envolvidos e da taxa de erupção.

Os incisivos estão localizados na mandíbula, estendendo-se abaixo e além dos molares. Eles crescem, mineralizam-se e erupcionam continuamente a partir de uma bainha elíptica denominada epitélio odontogênico, localizado na base (região intraóssea), e que inclui o tecido conjuntivo da polpa primitiva. Esse epitélio determina o tamanho e o contorno do futuro dente, proliferando durante toda a vida do animal. A produção experimental de condições alteradas de erupção no incisivo permite observar as diferentes respostas dos tecidos em cada fase de seu desenvolvimento, desde o estágio mais incipiente até a maturação.

O incisivo do rato consiste de uma coroa que pode ser dividida em duas partes: uma anterior ou convexa, chamada labial que é revestida por esmalte, e um remanescente posterior ou côncavo, na lingual e porções laterais, recobertas por cemento. Os tecidos periodontais dos incisivos são formados por um ligamento periodontal na superfície do dente onde a dentina é coberta por cemento (mesial, lingual e parte da distal), enquanto na labial e parte da distal, o esmalte é coberto pelo órgão dental e por um tecido conjuntivo muito vascularizado, chamado periodonto relacionado ao esmalte, que é similar aos tecidos que revestem a coroa de dentes de crescimento limitado quando esta está completa e a erupção intraóssea inicia, tais como os molares de roedores (Marks & Schroeder, 1996).

O processo e, particularmente, o mecanismo de erupção dos dentes são ainda pouco compreendidos. Moxhan & Berkovitz (1983), descreveram a erupção como

sendo um processo multifatorial no qual a causa e o efeito não são facilmente separados, como a força geradora do movimento, a translação desta força em movimento, a sustentação do dente em cada nova posição e a remodelação dos tecidos periodontais relevantes no movimento eruptivo. A alteração desses fatores pode causar aceleração, retardo ou mesmo interrupção do movimento eruptivo.

Muitas teorias têm implicado quase todos os tecidos adjacentes ao dente como mediadores do processo de erupção. Teorias tentam explicar a erupção por meio de: crescimento da raiz, proliferação de células da polpa e a pressão do fluido tecidual, pressão vascular ou hidrostática nos tecidos periodontais, remodelação do osso alveolar.

Experimentos de transecção de raiz de incisivos de ratos (Berkovitz, 1971), dividiram o dente em uma metade proximal contendo a zona proliferativa, enquanto a outra metade distal erupcionou. Esses resultados excluem teorias do mecanismo de erupção tais como o crescimento da raiz, a proliferação de células da polpa e a pressão do fluido tecidual.

Uma das teorias sugere que o ligamento periodontal seja o responsável pela erupção dental, particularmente em dentes de erupção contínua. Muitas evidências indicam que a força, ou forças de erupção, não atuam através da tração dos fibroblastos ou contração das fibras colágenas do periodonto, mas parecem estar relacionadas à pressão dentro dos tecidos periodontais, causadas por forças vasculares e/ou de natureza hidrostática (Moxham, 1994; Moxham & Berkovitz, 1995). Entretanto, algumas evidências questionam o papel do ligamento periodontal no processo eruptivo. Dentes de crescimento e erupção limitados erupcionam até mesmo na ausência de raiz, ou seja, sem ligamento periodontal, como nos casos de remoção cirúrgica da raiz e na Displasia dentinária do tipo I (Gorski & Marks, 1992; Marks & Schroeder, 1996). Lesões localizadas no ligamento periodontal não têm efeito na erupção, enquanto lesões similares no periodonto relacionado ao esmalte podem causar um variável período de retardo da erupção e em alguns casos cessar temporariamente o movimento eruptivo (Merzel *et al*, 2002). Essas observações conduzem à conclusão que o folículo dental tem um papel essencial no processo eruptivo, não somente na fase intra-óssea, mas



também na fase supra-óssea, a qual é contínua no incisivo de roedores devido a presença de um órgão odontogênico funcionando continuamente (Marks *et al*, 1987; Gorski & Marks, 1992; Merzel *et al*, 2000a e b).

A formação do caminho eruptivo é um evento localizado e programado geneticamente. A necessidade do folículo para a erupção do dente foi demonstrada também em outros estudos. Cahill & Marks (1980) realizaram um estudo cirúrgico em cães mostrando que a remoção do folículo dental de pré-molares preveniu o dente de erupcionar. Em outro experimento, a remoção do dente e sua substituição por uma réplica de amálgama dental, porém preservando o folículo intacto, resultou na erupção do dente artificial (Marks & Cahill, 1984). Esses experimentos excluem muitas teorias de erupção, porque possíveis tecidos propostos como necessários para erupção tais como a polpa dental e raiz, foram eliminados.

Outra hipótese relaciona a força eruptiva à remodelação do osso alveolar. Reabsorção e formação estão concentradas ao redor dos tecidos do dente erupcionando e dependem da atividade metabólica do folículo dental (Marks *et al*, 1994; Marks & Schroeder, 1996). A necessidade de reabsorção do osso para erupção ocorrer foi inicialmente observada em roedores com osteopetrose, uma doença óssea congênita marcada por reduzida reabsorção óssea sem redução da formação, caracterizada pela falha na erupção dos dentes, mesmo quando eles estão totalmente formados (Marks, 1973). Estudos com drogas inibidoras de reabsorção óssea por osteoclastos, como o bifosfonato pamidronato, mostraram o retardamento da erupção em molares e incisivos de ratos (Grier & Wise, 1998).

Existem poucos trabalhos sobre a remodelação do osso alveolar em incisivos de crescimento e erupção contínuos. Irie & Ozawa (1990a) mostraram que há reabsorção óssea contínua na face labial do alvéolo e ativa remodelação óssea na face lingual. Além disso, ocorre uma troca de reabsorção óssea para formação óssea na face labial quando as forças compressivas da erupção do dente cessam no espaço do alvéolo depois de ressecção da raiz (Irie *et al*, 1990b). Essa inversão também foi encontrada na

mesial da face labial do alvéolo mais próxima à crista alveolar em dentes hipofuncionais (Gerlach *et al*, 2002).

O osso normal, incluindo o osso alveolar, é continuamente remodelado por um processo que equilibra reabsorção óssea por osteoclastos seguido por deposição óssea por osteoblastos. O processo de remodelação óssea é influenciado por forças que agem sobre o tecido. Sabe-se que forças de tração provocam formação óssea enquanto forças de pressão causam reabsorção do osso. O grau de reabsorção ou formação de osso alveolar de dentes de crescimento e erupção contínuos sofre variações e é influenciado pelas resultantes de forças que agem em cada região do comprimento total do dente.

Vários trabalhos que utilizam um modelo de aplicação de forças mecânicas sobre o incisivo, têm investigado os efeitos de cargas, tempo de aplicação das forças e condições funcionais diferentes na erupção do incisivo e nos tecidos dentais e periodontais após um período de recuperação (Steigman *et al*, 1989; Terespolsky *et al*, 2002; entre outros). Entretanto, pouco foi investigado sobre a remodelação óssea em incisivos com a erupção impedida.

A remodelação óssea pode fornecer informações essenciais para o entendimento da erupção em incisivos de crescimento e erupção contínuos. Neste estudo foi utilizado como modelo a imobilização de incisivo de rato para impedir a erupção, com a finalidade de avaliar o processo de remodelação óssea, utilizando marcadores fluorescentes, e as alterações morfológicas do periodonto após o período de contenção e durante a recuperação da taxa de erupção normal.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

Trinta e quatro ratos Wistar machos foram adquiridos do CEMIB-UNICAMP, mantidos no Biotério do Departamento de Morfologia da FOP-UNICAMP sob condições controladas de luz (12 horas no claro, 12 horas no escuro) e temperatura (25-30° C), e tratados com água e alimentação sólida *ad libitum*, estando de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal (em Anexo).

No primeiro dia do experimento todos os animais, com peso médio de 360 gramas, foram anestesiados com ketamina (80mg/kg) e xylasina (8mg/kg) (Francotar e Virbaxyl 2%; Virbac, Brasil), e receberam uma contenção com fio de aço número 0,4 para impedir a erupção do incisivo inferior esquerdo. Uma das extremidades do fio foi presa a um orifício na face labial do dente perfurado com uma broca Carbide ¼ (Sorensen, KG, Brasil) preenchido com resina fotopolimerizável (3M, USA), enquanto a outra extremidade envolveu o primeiro molar inferior esquerdo (Figuras 1 e 2, ver também Figuras 3 e 4). A contenção foi mantida durante 18 dias, enquanto o incisivo inferior direito foi usado como controle.



1



2

Figuras 1 e 2 - Fotografias de hemimandíbulas esquerda dissecadas mostrando contenção com fio de aço impedindo a erupção do incisivo.

A taxa de erupção dos incisivos inferiores foi medida semanalmente utilizando-se uma lente com grade calibrada em lupa estereoscópica para medir a distância entre um sulco na face labial dos dentes feito com broca de diamante número 1090 (Sorensen, KG, Brasil) e a margem gengival do incisivo inferior direito. As primeiras marcas foram feitas logo após a contenção e repetidas antes do seu desaparecimento, como descrito por Merzel *et al.* (2000).

Durante o período de contenção, os animais receberam três injeções de marcadores fluorescentes. Duas injeções intraperitoneais de tetraciclina (15mg/kg, Sigma, USA) foram aplicadas, a primeira 24 horas após o início da contenção e outra no décimo quinto dia. No oitavo dia do experimento os animais receberam uma injeção intraperitoneal de calceína (15mg/kg, Sigma, USA). Ambos os marcadores foram diluídos em solução de bicarbonato de sódio 14g/L.

Dezoito ratos foram sacrificados no décimo oitavo dia de experimento por aprofundamento de anestesia, constituindo o grupo A. Os 16 ratos restantes, compondo o grupo B, foram anestesiados e tiveram a contenção removida e a taxa de erupção dos incisivos medida semanalmente por um período de 74 dias, fim dos quais os animais foram sacrificados.

## 2.1 – Microscopia de fluorescência

Após o sacrifício, doze animais do grupo A tiveram suas hemimandíbulas dissecadas e fixadas em solução de formol 10% por 48 horas, radiografadas, e divididas em quatro regiões: 1) região do forame mentoniano à crista alveolar; 2) da distal do 1º molar inferior ao forame mentoniano; 3) região do 2º e 3º molares inferiores; 4) região odontogênica (Figura 3). As peças foram lavadas em água corrente durante 72 horas e incluídas em metacrilato 0,5% em tubos de ensaio. Cortes transversais grossos foram obtidos usando um disco de diamante montado em serra de baixa velocidade (South Bay Technology, USA), colados em lâminas de vidro e desgastados para uma espessura

de 50-100 $\mu$ m. Após a montagem com Entellan® (Merck, Alemanha) as lâminas foram analisadas em microscópio de fluorescência (Leica DMLP, Alemanha) e fotografadas.

Todos os 16 animais do grupo B foram utilizados para análise em microscopia de fluorescência, passando pelo mesmo processamento descrito para o grupo A, sendo que uma porção das regiões 2 e 4 de quatro animais foi separada para descalcificação e processamento para análise histológica (Figura 4).

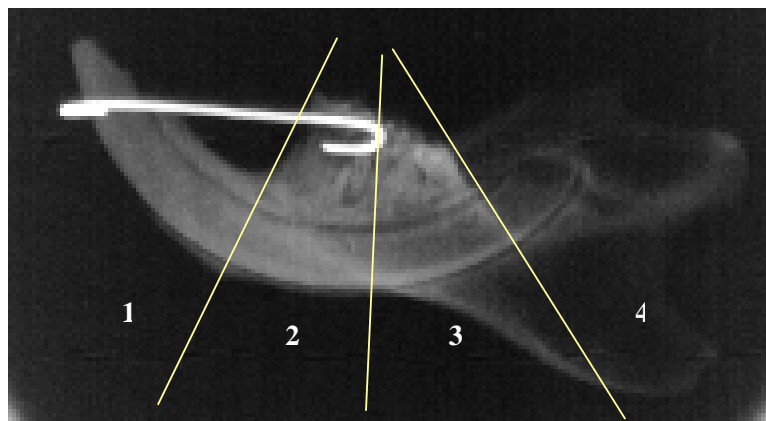


Figura 3 –Radiografia de hemimandíbula esquerda. As linhas amarelas mostram a divisão da mandíbula em 4 regiões.

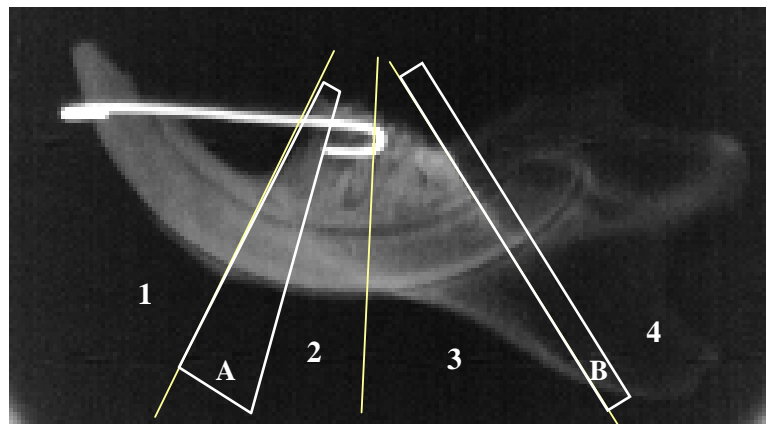


Figura 4- Radiografia de hemimandíbula esquerda. A e B representam as porções da região 2 e 4 separadas para análise histológica.

## 2.2 – Análise histológica

Seis animais do grupo A tiveram suas hemimandíbulas dissecadas e colocadas em solução de glutaraldeído a 2,5% e tampão cacodilato pH 7,4, descalcificadas em EDTA a 10% em tampão Tris pH 7,4, desidratadas em soluções de concentrações crescentes de álcool e incluídas em resina JB-4 (Polysciences, Inc., USA). Porções das regiões 2 e 4 de quatro animais do grupo B foram submetidas ao mesmo procedimento descrito para os animais do grupo A. Cortes transversais com espessura de 4 µm foram corados com hematoxilina e eosina e analisados em Microscópio de luz.

### 3 RESULTADOS

A contenção com fio de aço mostrou-se eficiente em impedir a erupção do incisivo inferior esquerdo, que teve uma média de taxa diária de erupção próxima a zero (0,03mm,  $\pm 0,06$ mm) durante o período de 18 dias. Após alguns dias de contenção, o incisivo esquerdo sofreu um desgaste que resultou na diminuição da sua coroa clínica. O incisivo direito (controle) manteve uma taxa diária média de erupção de 0,54mm ( $\pm 0,09$ mm) considerada normal (figura 5).

A utilização de dois marcadores diferentes - tetraciclina produzindo uma linha fluorescente amarela e a calceína uma linha verde - e a sequência em que foram administradas permitiu observar a evolução da formação de novos tecidos mineralizados. Na dentina, que normalmente não sofre reabsorção, as linhas foram sempre visualizadas e a distância entre elas indica a quantidade de tecido formado em um intervalo de tempo conhecido (Fig. 7). No tecido ósseo ocorre remodelação que envolve formação e reabsorção de osso, sendo esta última indicada pelo desaparecimento ou interrupção das linhas fluorescentes.

#### 3.1 *Contenção da erupção do incisivo*

No grupo A, a análise da fluorescência na hemimandíbula controle mostrou aposição óssea em toda a superfície externa da hemimandíbula nas regiões 2, 3 e 4, e principalmente na face labial e distal da região 1, durante todo o período de experimento (Fig. 7A-D). Nenhuma marcação foi observada na face labial adjacente ao periodonto relacionado ao esmalte (PRE) nas quatro regiões estudadas e, na região 1, as linhas de aposição externa são interrompidas indicando reabsorção óssea (Fig. 8A). Observamos aposição nas faces mesial e lingual do osso alveolar relacionado ao ligamento periodontal (LP) das regiões 1, 2 e 3, e traços de marcação na distal que possui um aspecto irregular, indicando uma região onde ocorre intensa remodelação óssea (Fig. 9A, C e E).

A contenção do incisivo esquerdo causou um aumento na espessura de dentina e, portanto, redução do diâmetro da câmara pulpar em todas as regiões da mandíbula. Nas regiões 2 e 3 ocorreu aumento do espaço do ligamento periodontal na lingual do incisivo e uma aparente redução do espaço do periodonto relacionado ao esmalte na labial (Fig. 7F-G). Na região 4 observamos a presença de tecidos dentais mineralizados e aumento do diâmetro do alvéolo, provavelmente provocado por reabsorção óssea induzida pelo crescimento do incisivo no sentido basal (Fig. 6 e 7H).

Na face labial adjacente ao PRE da região 1, principalmente na metade mesial, a presença das linhas de marcação indica uma inversão de reabsorção para aposição óssea, logo nos primeiros dias após a contenção do incisivo (Fig. 8B). Nas faces mesial, lingual e distal do alvéolo das regiões 1, 2 e 3 ocorreu aumento na formação de osso (Fig. 9B, D e F). Na região 4 houve maior reabsorção das linhas externas na lingual e distal, com grande distância entre a 2ª e 3ª linha de marcação indicando que houve grande aposição nesta região durante a segunda semana do experimento (Fig.10B).

Os cortes histológicos das regiões 1 e 2 mostraram, no controle, ameloblastos em fase de maturação, muitos osteoclastos na face labial do alvéolo, principalmente na metade distal. No incisivo esquerdo do grupo A, os ameloblastos tornaram-se reduzidos, achatados ou cubóides, e houve aumento de osteoblastos no osso alveolar na face labial adjacente ao PRE (Fig. 11).



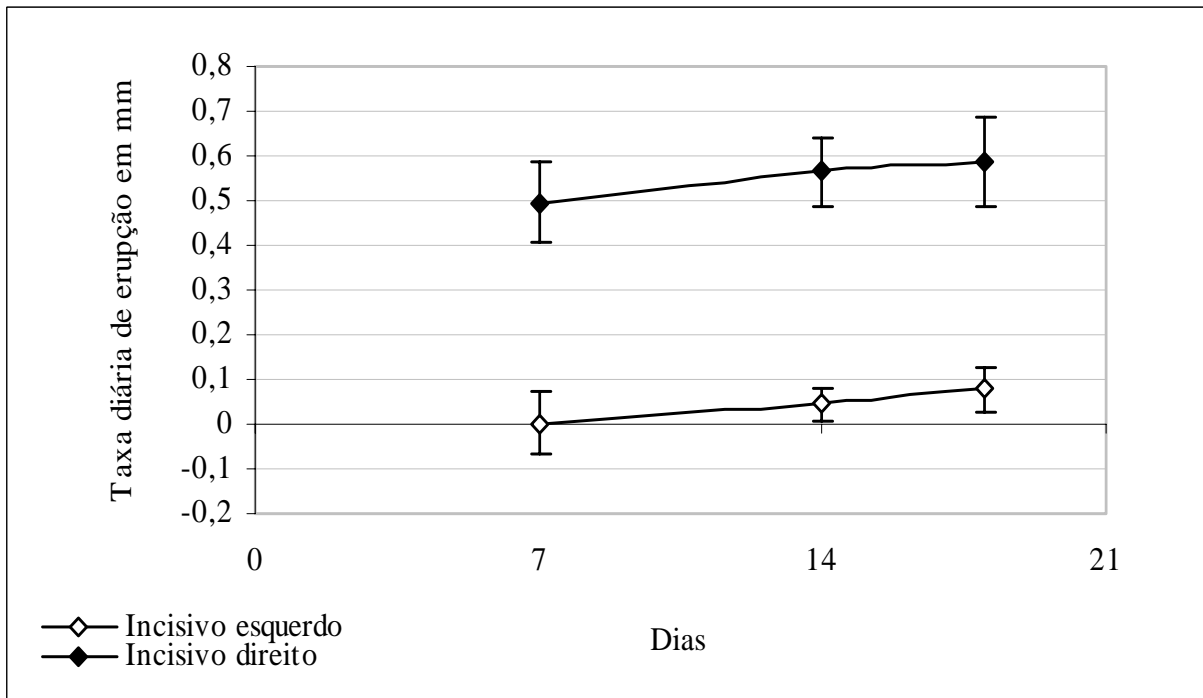


Figura 5 – Média e desvio padrão de taxa diária de erupção dos incisivos inferiores durante o período de contenção.

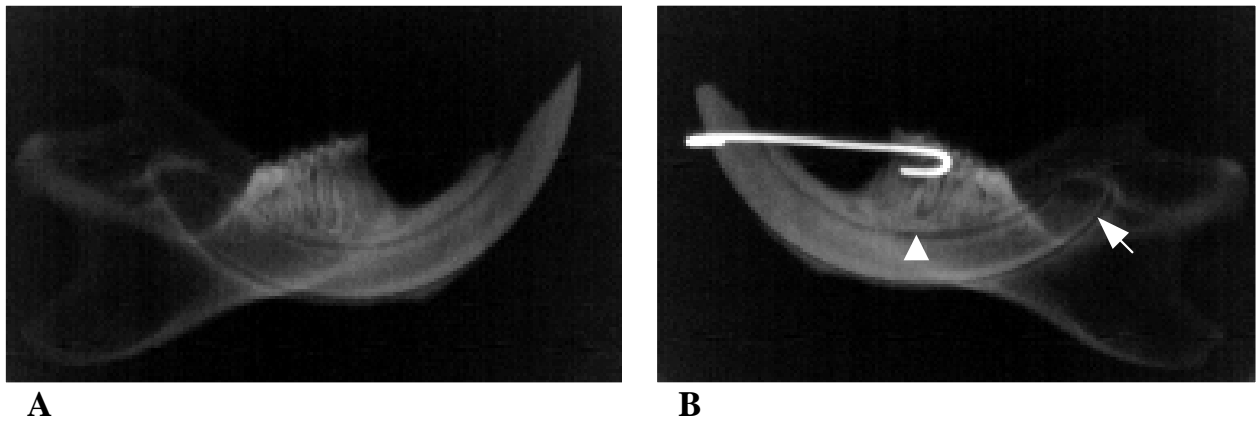
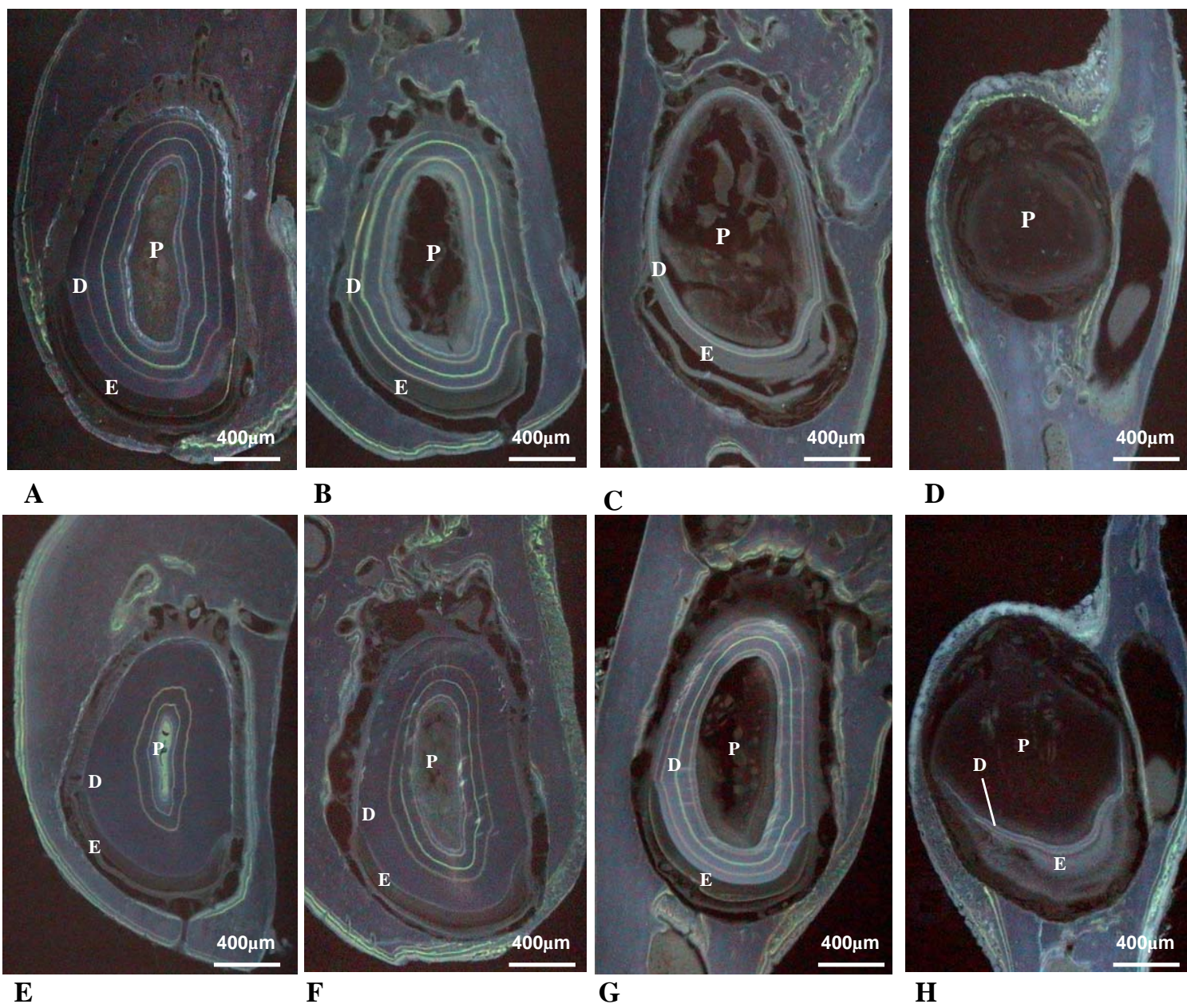


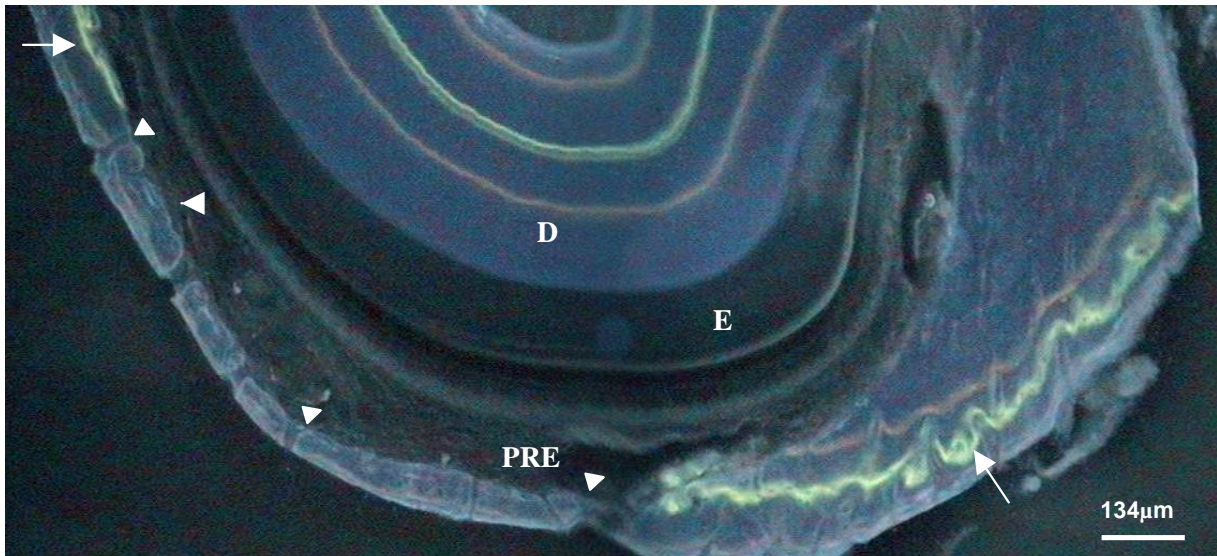
Figura 6 – Radiografias da hemimandíbula direita (A) e esquerda (B). A seta aponta para imagem compatível com dentina e esmalte na região odontogênica, indicando crescimento do incisivo em direção à apical. Em B, cabeça de seta indica aumento do espaço do ligamento periodontal na lingual do incisivo.



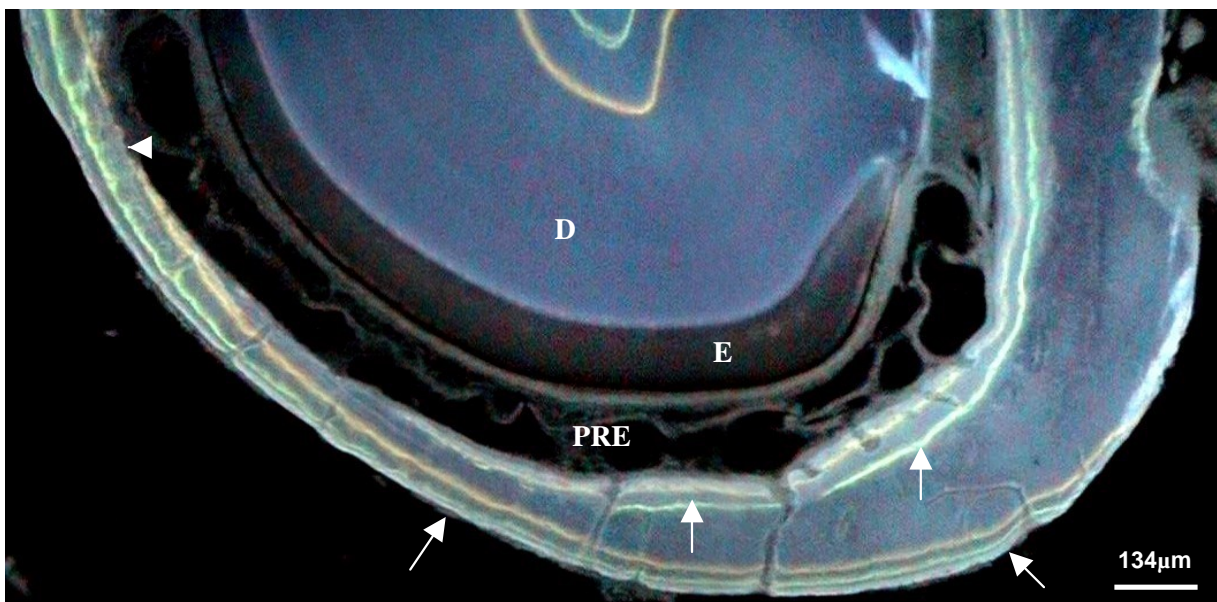
### Legenda da figura 7

Micrografias de fluorescência de cortes transversais não descalcificados da hemimandíbula direita (A-D) e esquerda (E-H) de animais do grupo A. Micrografias A e E correspondem a região 1; B e F, região 2; C e G, região 3; D e H, região 4. A face mesial do incisivo está voltada para a direita e a face labial para baixo, em todas as micrografias. Os detalhes sobre a marcação fluorescentes estão nas figuras 8, 9 e 10. Aqui observa-se aposição óssea na porção externa da mandíbula em todas as micrografias e as alterações nos dentes contidos quando comparados aos controles: 1) redução do diâmetro da câmara pulpar e, 2) aumento da espessura de dentina em todas as regiões (E-H); 3) aumento do espaço do ligamento periodontal na lingual do incisivo (F e G); 4) redução do espaço do periodonto relacionado ao esmalte na labial (F e G); 5) presença de dentina e esmalte e aumento do diâmetro do alvéolo na região odontogênica (H).





**A**



**B**

Figura 8 – Micrografias de fluorescência de cortes transversais de hemimandíbulas de ratos do grupo A evidenciando a porção labial da região 1. A - hemimandíbula direita; B - hemimandíbula esquerda. As setas apontam para as linhas fluorescentes indicando formação óssea na porção externa do osso alveolar em A e B, e na face labial do alvéolo adjacente ao PRE em B. A interrupção das linhas fluorescentes na metade distal da labial indicam reabsorção óssea, maior em A que em B (cabeças de seta).

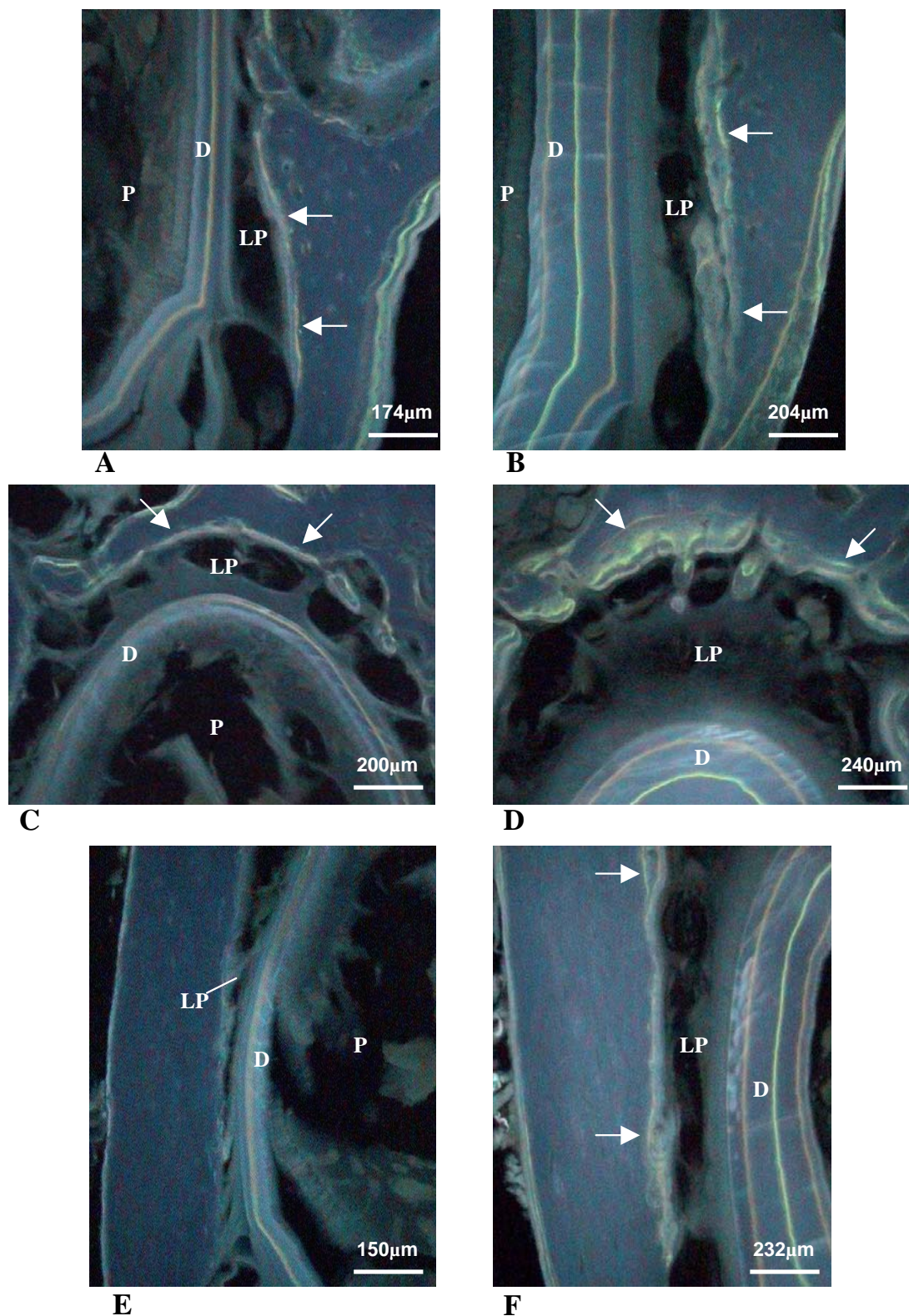
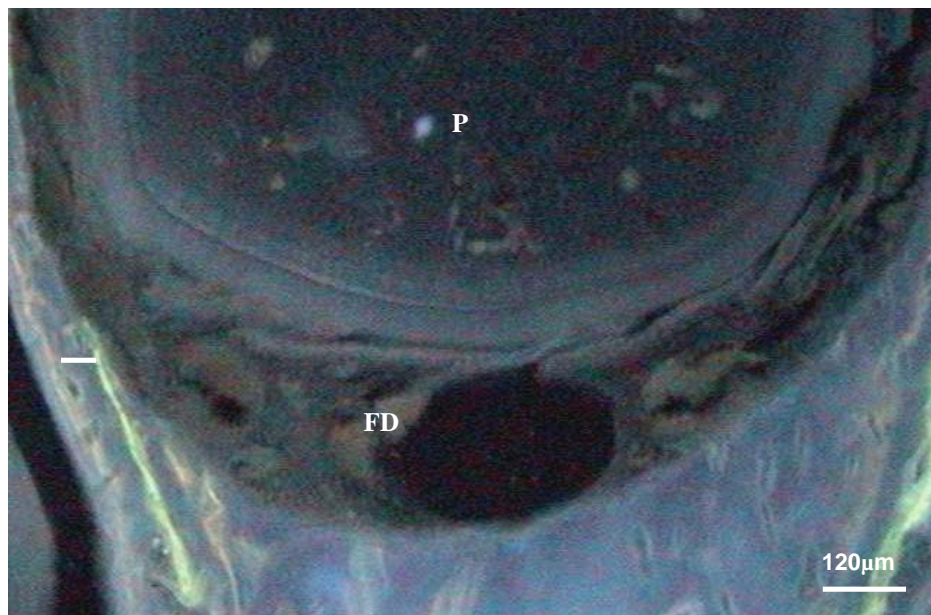
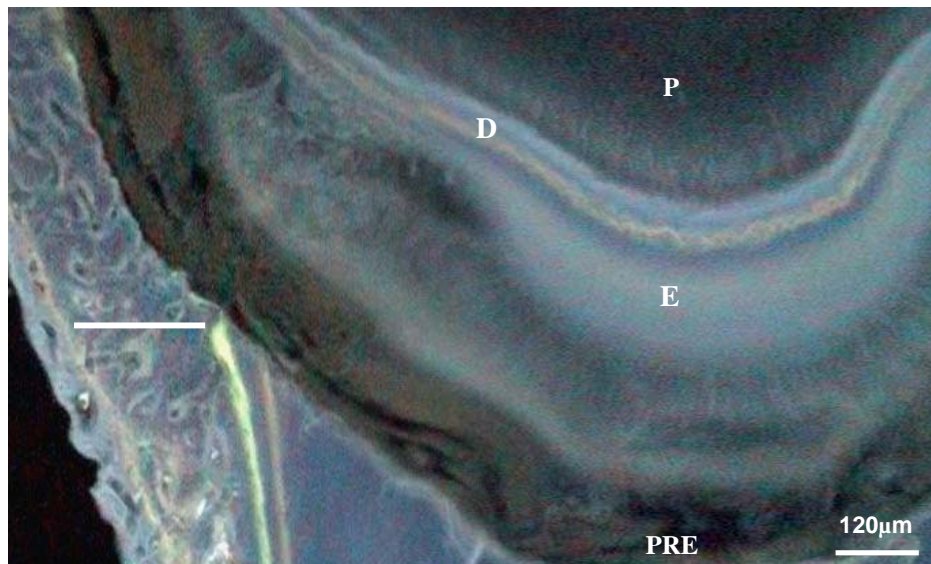


Figura 9 – Micrografias de fluorescência da região 3 da hemimandíbula direita (A, C e E) e esquerda (B, D e F) de ratos do grupo A. Micrografias A e B - mesial; C e D - lingual; E e F – distal. As setas apontam para áreas de aposição óssea. A maior distância entre as linhas fluorescentes em B, D e F indica maior aposição na hemimandíbula esquerda nas faces do alvéolo mostradas.





**A**

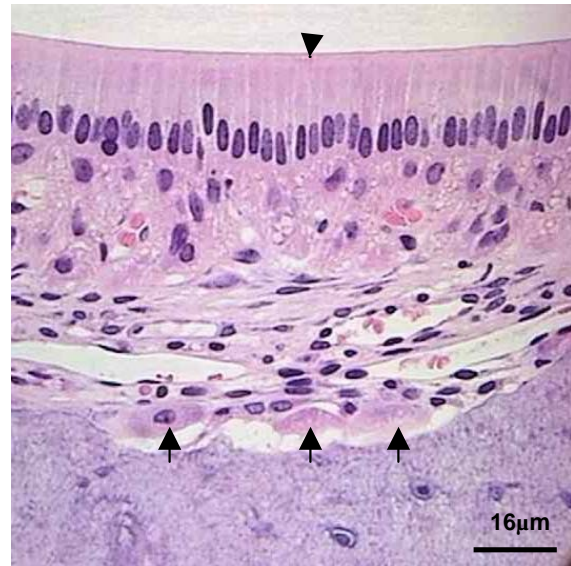


**B**

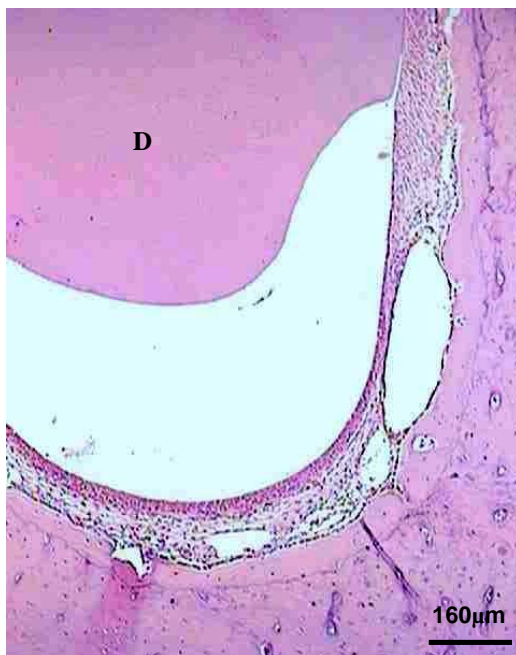
Figura 10 – Micrografias de fluorescência da região 4 de mandíbula de rato. A - hemimandíbula direita; B - hemimandíbula esquerda. Em A notamos região odontogênica com ausência de tecidos dentais mineralizados, e em B, a presença de dentina marcada com uma linha fluorescente e esmalte. As linhas brancas indicam a distância entre a 2ª e 3ª linha, mostrando que em B a aposição óssea foi maior durante a 2ª semana de contenção.



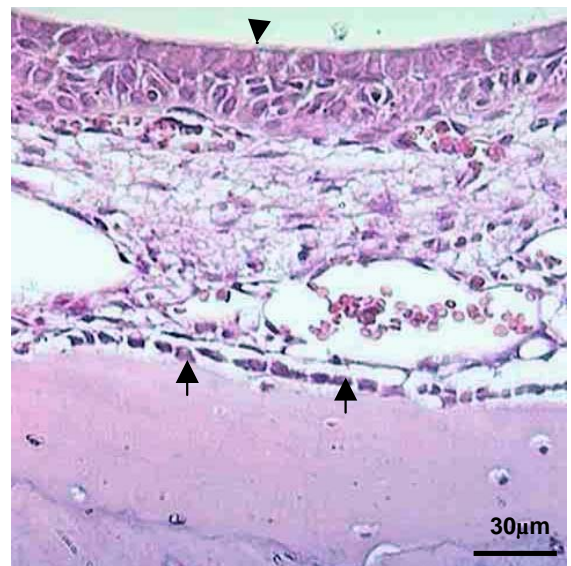
**A**



**B**



**C**



**D**

Figura 11 – Micrografias de cortes histológicos da região 1 de mandíbula de rato. A e B – hemimandíbula direita; C e D – hemimandíbula esquerda. As micrografias A e C mostram metade mesial da face labial do osso alveolar. Em B, ameloblastos (cabeça de seta) em fase de maturação e muitos osteoclastos (setas) na face labial do alvéolo. Em D, ameloblastos reduzidos e osteoblastos na face labial do alvéolo (setas).

### 3.2 Período de recuperação da erupção

Após a remoção da contenção, observamos uma grande variação da taxa diária de erupção entre os animais durante o período de recuperação (Figura 12). Ao final de 74 dias apenas 5 animais recuperaram a taxa de erupção normal. Dos outros 11 animais somente um não apresentou erupção do incisivo esquerdo, com uma taxa diária média de 0,006mm ( $\pm$  0,031mm), enquanto os demais tiveram uma grande variação nas médias (Tabela 1).

**Tabela 1**

Animais do grupo B separados de acordo com a taxa diária de erupção do incisivo inferior esquerdo durante o período de recuperação da erupção do dente.

Taxa diária de erupção do incisivo inferior esquerdo	Nº de animais
Taxa de erupção normal semelhante ao controle	5
>0,2mm e <0,40mm	5
>0,1mm e <0,2mm	4
<0,1mm	2

As radiografias das hemimandíbulas dos animais que recuperaram a taxa de erupção normal mostram uma imagem semelhante entre o incisivo esquerdo e o direito (controle), sugerindo a recuperação do diâmetro da polpa, da espessura de dentina, do espaço do ligamento periodontal em todas as regiões e a ausência de tecidos dentais mineralizados na região odontogênica após o período de recuperação (Fig. 13).

A microscopia de fluorescência também mostrou marcação óssea semelhante à do controle. Na labial da região 1 houve reabsorção contínua do osso adjacente ao PRE, onde as linhas externas estão interrompidas. A grande distância das linhas de aposição externa para a superfície da mandíbula, indica aposição constante



durante o período do experimento, onde o tecido ósseo na labial é totalmente substituído por osso novo (Fig. 14).

Nas regiões 1, 2 e 3, a aposição óssea na face mesial e lingual, e a reabsorção óssea na distal do alvéolo pode ser comparada ao controle, assim como a espessura de dentina e o diâmetro da câmara pulpar em todas as regiões (Fig. 14). Na região 4 há uma distância maior entre a 2ª e a 3ª linha de marcação de aposição externa, como vista durante o período de contenção, confirmando que houve aumento na formação óssea na região odontogênica durante a segunda semana de contenção. Nenhum tecido dental mineralizado foi observado nesta região e o alvéolo parece ter recuperado o diâmetro normal (Fig. 15).

Os animais do grupo B que não recuperaram a taxa de erupção normal apresentaram obstrução da câmara pulpar por dentina, aumento do espaço do ligamento periodontal na lingual do incisivo nas regiões 2 e 3, redução do espaço do periodonto relacionado ao esmalte na labial, deposição de dentina e esmalte em direção à basal do incisivo esquerdo quando comparado ao controle, como sugerem as radiografias das hemimandíbulas mostradas na figura 16. Essas alterações parecem ser inversamente proporcionais à taxa diária de erupção dos animais, ou seja, quanto menor a taxa de erupção maior as alterações citadas.

As micrografias de fluorescência mostraram uma espessura aumentada na metade mesial da labial na região 1, onde observamos a presença de traços de marcação e às vezes uma linha fluorescente indicando pouca reabsorção e/ou aposição óssea durante o período de recuperação (Fig. 17). Nas regiões 1, 2 e 3 também observamos grande quantidade de tecido ósseo formado após as marcas fluorescentes na face lingual e mesial do alvéolo, e obstrução completa da polpa por dentina (Fig. 18).

Algumas lesões nos tecidos dentais foram observadas nos incisivos com baixa taxa diária de erupção e no período de contenção. A alteração mais frequente foi a deposição de dentina e de esmalte com forma irregular nas regiões 3 e 4. Em alguns animais observamos a formação de uma dobra na dentina que provocou uma grande reabsorção óssea na face lingual e mesial do alvéolo e aumento do espaço do ligamento

periodontal na mesial (Fig. 19). A reabsorção de dentina foi uma das alterações mais comuns, observadas principalmente nas regiões 3 e 4, e a formação de anquilose na região 1 foi observada em apenas um animal, o qual não apresentou erupção durante o período de recuperação (Fig. 20).

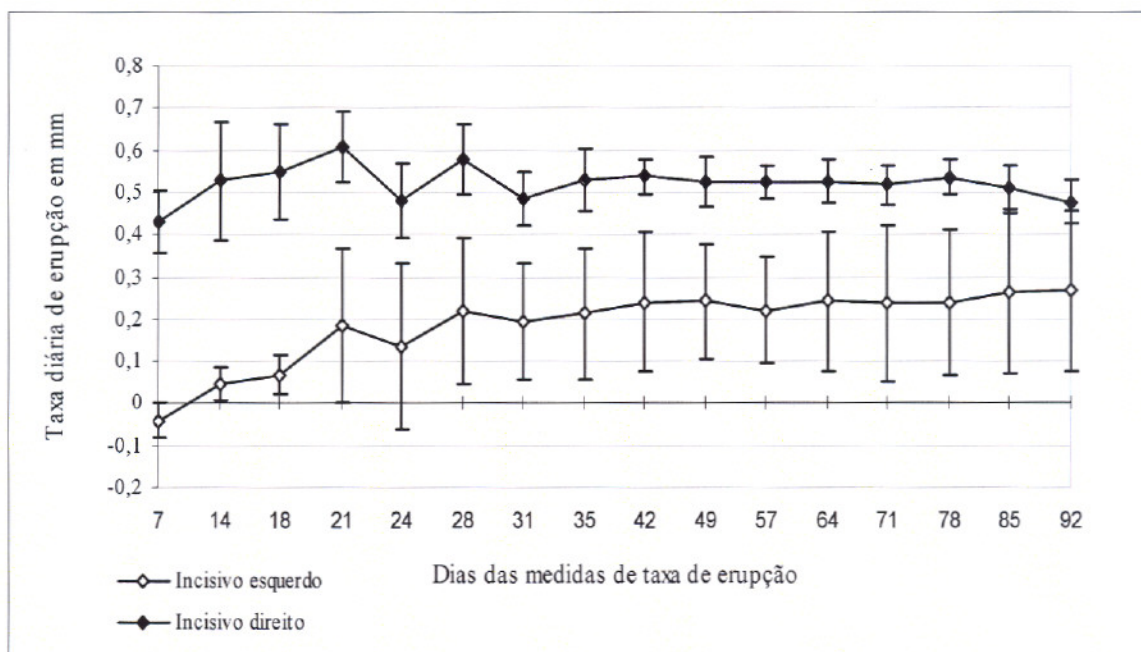
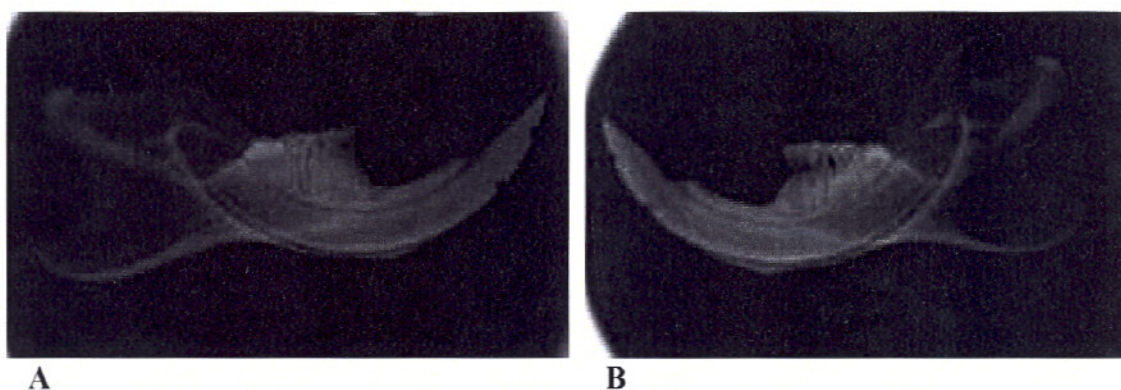


Figura 12 - Média e desvio padrão da taxa diária de erupção dos incisivos dos animais do grupo B.



A

B

Figura 13 - Radiografias da hemimandíbula direita (A) e esquerda (B) de rato do grupo B com taxa de erupção normal após período de recuperação. A imagem sugere semelhança entre os tecidos dentais do dente contido e do controle.



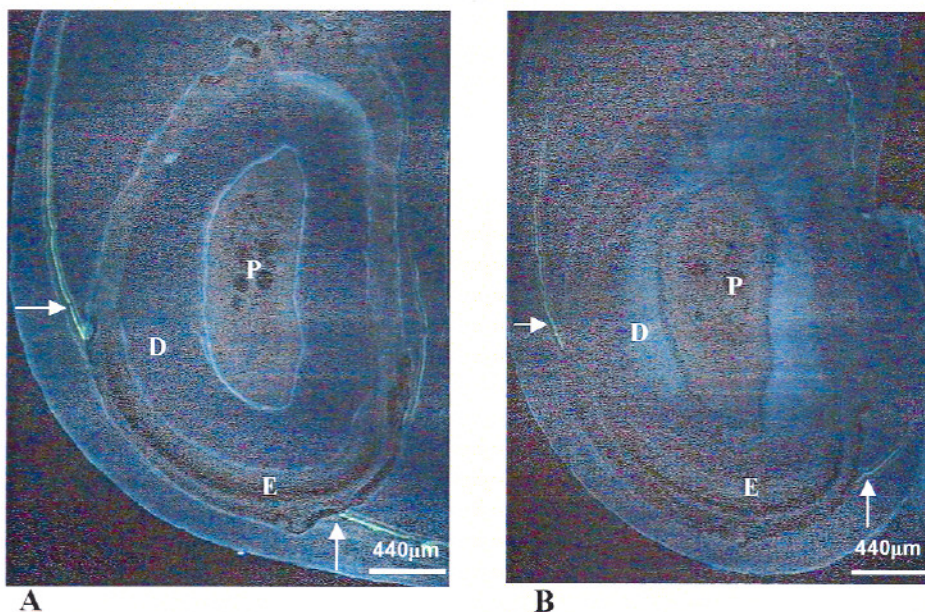


Figura 14 - Micrografias de fluorescência da região 1 de mandíbula de rato que recuperou a taxa de erupção normal. A – hemimandíbula direita; B – hemimandíbula esquerda. Remodelação óssea de B semelhante a de A, reabsorção das linhas de aposição externa que estão afastadas da superfície da mandíbula e ausência de marcação em dentina.

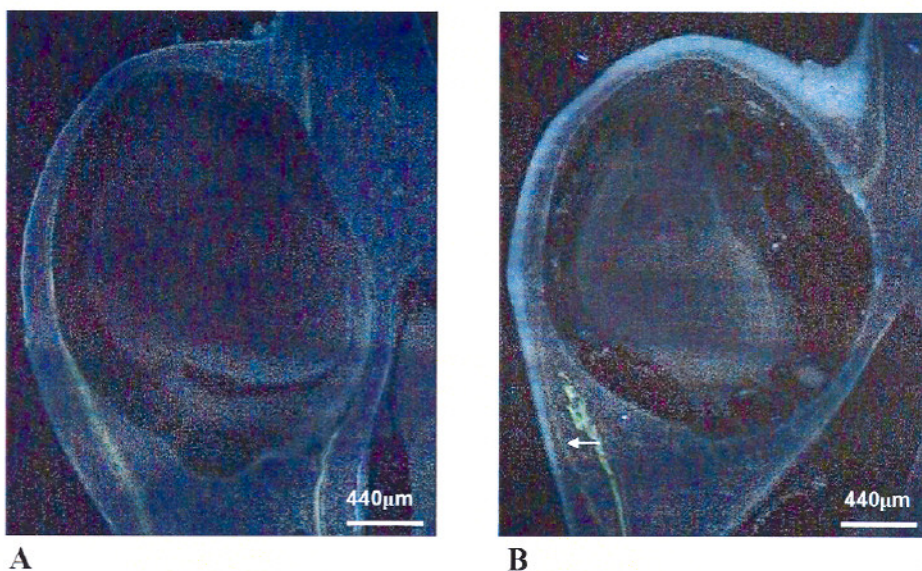


Figura 15 - Micrografias de fluorescência da região 4 da mandíbula de rato que recuperou a taxa de erupção normal. A - hemimandíbula direita; B - hemimandíbula esquerda. Em B, maior distância entre a 2ª e 3ª linhas de marcação (seta). O diâmetro do alvéolo é semelhante entre A e B.



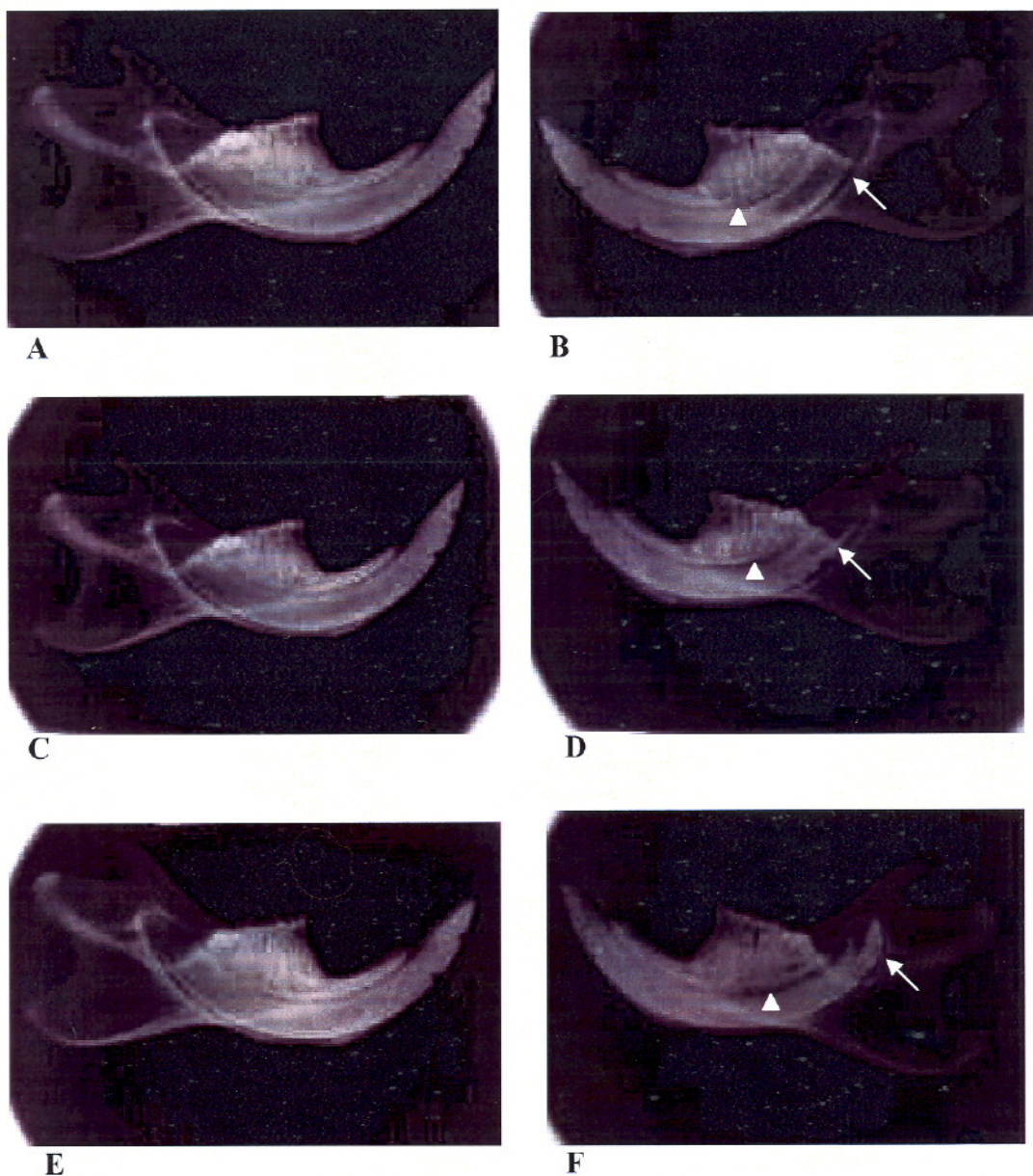


Figura 16 - A, C e E, radiografias de hemimandíbula direita (controle); B, D e F, radiografias de hemimandíbula esquerda de ratos do grupo B que não recuperaram a taxa diária de erupção normal ao final do experimento. B - incisivo com taxa de erupção entre 0,2 e 0,4mm; D - incisivo com taxa diária de erupção entre 0,1 e 0,2mm; F - incisivo com taxa diária de erupção  $<0,1$ mm. As radiografias da hemimandíbula esquerda sugerem aumento do espaço do ligamento periodontal na lingual do incisivo principalmente nas regiões 2 e 3 (cabecças de seta), deposição de dentina e esmalte em direção à apical (setas).



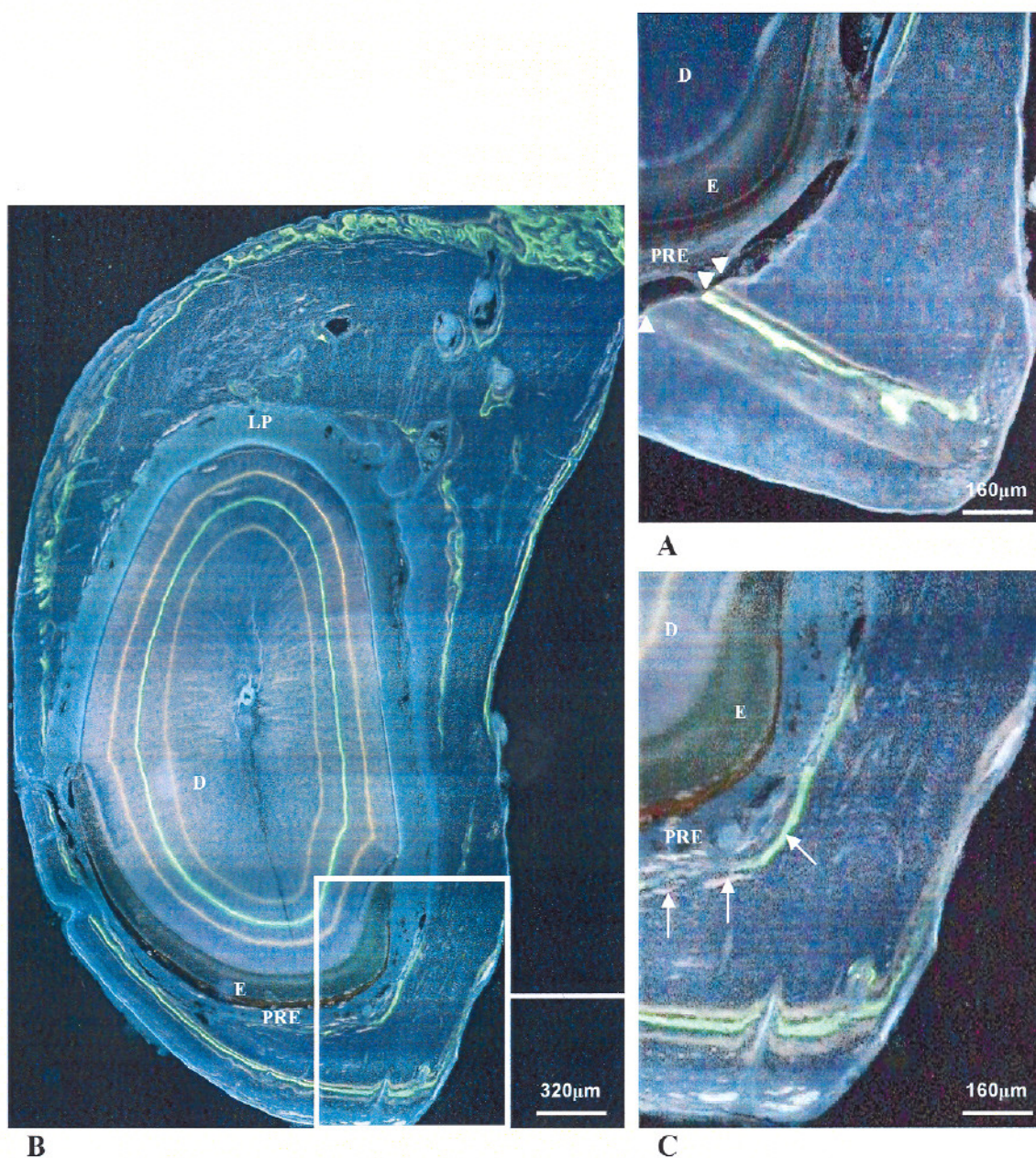
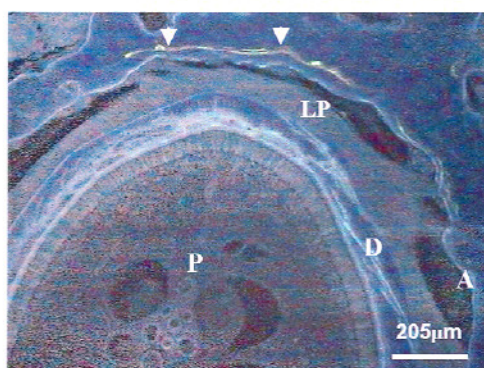
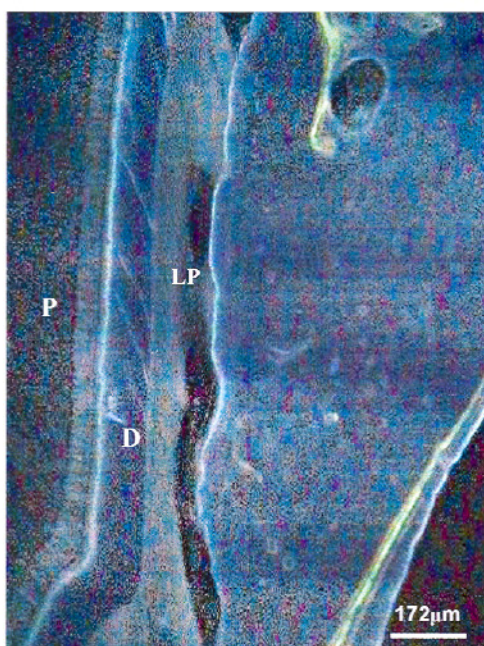


Figura 17 - Micrografia de fluorescência da região 1 de rato do grupo B com taxa diária de erupção entre 0,1 e 0,2mm. A- hemimandíbula esquerda (controle), mostrando reabsorção das três linhas de aposição externa na metade mesial da labial (cabeças de seta). B e C – hemimandíbula esquerda. C é o aumento da área do retângulo em B, mostrando a maior espessura do osso na labial, três linhas de aposição externa e uma linha fluorescente verde e traços de marcação pela tetraciclina (setas) indicando aposição e/ou ausência de reabsorção na face labial adjacente ao PRE.

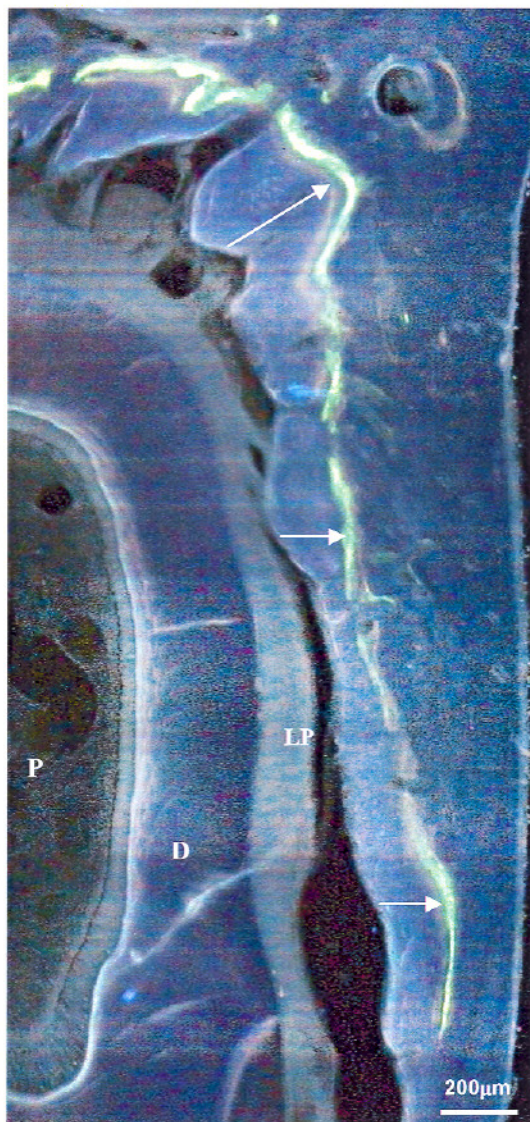




A



B



C

Figura 18 - Micrografias de fluorescência da região 3 de animais do grupo B com taxa diária de erupção entre 0,1 e 0,2mm. A – lingual da hemimandíbula direita (controle); B – mesial da hemimandíbula direita; C – mesial e lingual da hemimandíbula esquerda. Em A e B, pouca aposição óssea na face lingual (cabeça de seta) e na mesial do alvéolo. As setas indicam maior aposição óssea na face mesial e lingual do alvéolo em C.

### Legenda da figura 19

Micrografias de cortes transversais da hemimandíbula esquerda.

A – Microscopia de luz da região 3 de incisivo com taxa diária de erupção entre 0,1 e 0,2mm mostrando áreas de reabsorção de dentina (setas), que possui uma forma irregular, assim como o esmalte.

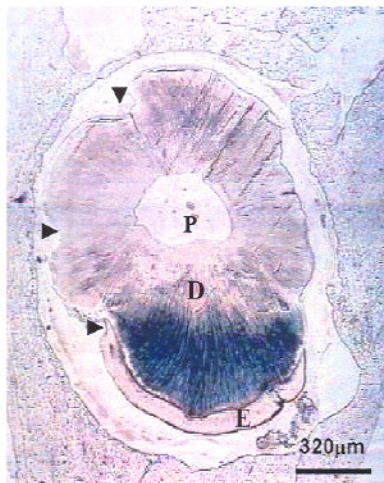
B - Microscopia de luz da região de incisivo com taxa diária de erupção < 0,1mm mostrando grande quantidade de dentina e esmalte com forma irregular na região odontogênica e reduzido espaço do periodonto.

C – Micrografia de fluorescência da região 2 de incisivo com taxa diária de erupção entre 0,1 e 0,2mm, mostrando um dobramento da dentina na lingual do incisivo causando provável aumento da espessura do ligamento periodontal na lingual e mesial e redução na distal.

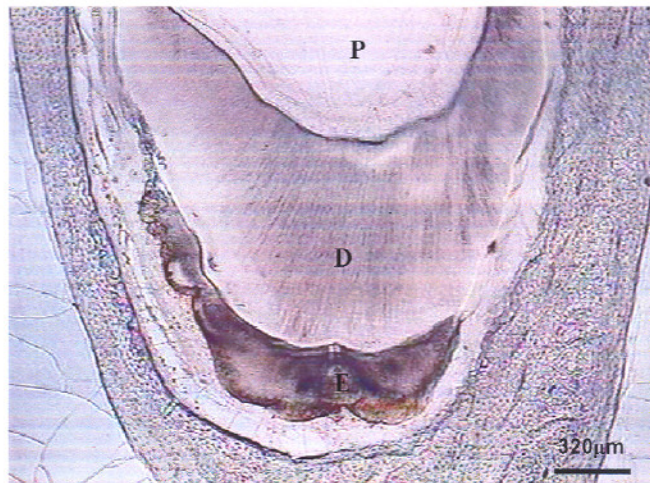
D- Micrografia de fluorescência mostrando detalhe da lingual de C. as setas apontam para linha fluorescente marcando a dobra na dentina, indicando sua formação durante o período de contenção do incisivo.

E e F – Corte histológico da região 3 de rato do grupo A ao final de 18 dias de contenção mostrando a presença de dobra da dentina na lingual do incisivo e áreas de reabsorção de dentina (setas).

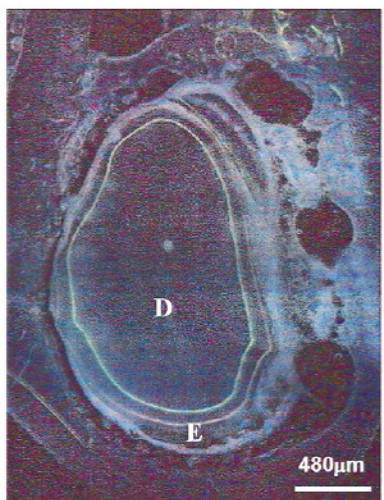




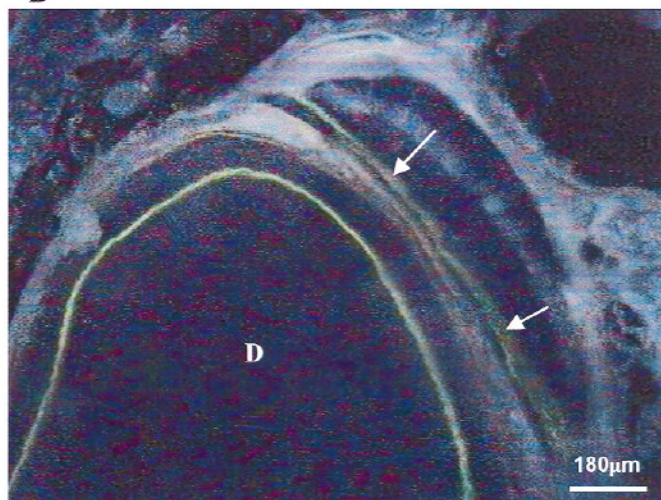
A



B



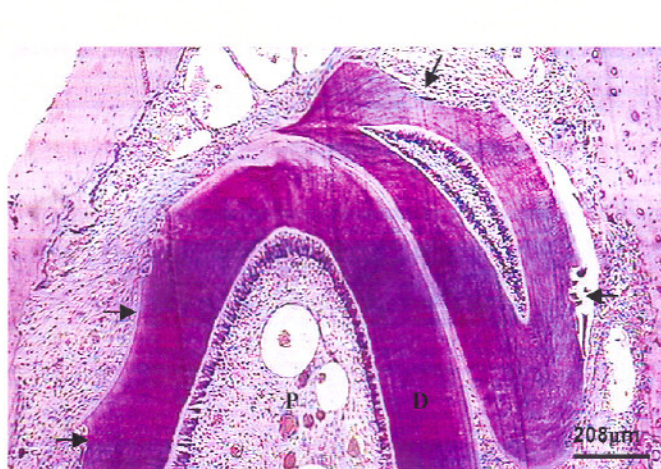
C



D



E



F



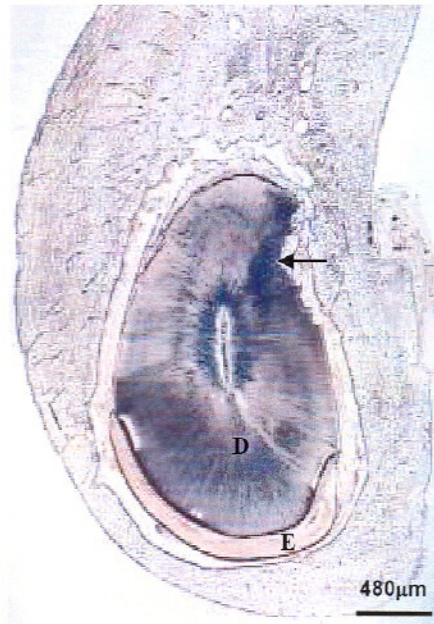
### Legenda da figura 20

Micrografias de cortes transversais da região 1 da mandíbula de rato do grupo B com taxa diária de erupção  $<0,1\text{mm}$ .

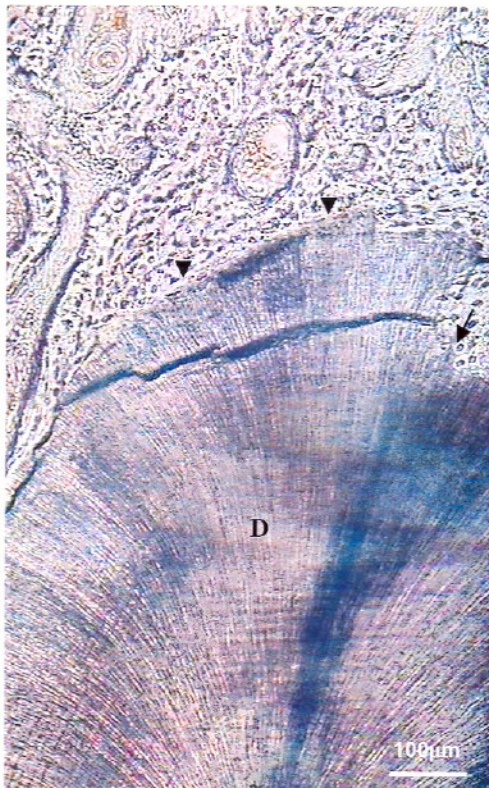
A – Microscopia de luz mostrando área de reabsorção de dentina (seta), anquilose na lingual e redução do espaço do periodonto relacionado ao esmalte na labial.

B – Microscopia de luz da lingual de incisivo mostrando anquilose (cabeças de seta) e reabsorção de dentina (seta).

C - Micrografia de fluorescência de B mostrando linhas fluorescentes (cabeças de seta) no osso aderido ao dente indicando que a anquilose ocorreu durante o período de contenção.



A



B



C

## 4 DISCUSSÃO

Os resultados obtidos por microscopia de fluorescência descritos aqui, em incisivos com erupção normal (controles), indicam constante osteogênese no osso alveolar relacionado ao ligamento periodontal, principalmente na face lingual e mesial. Na face labial adjacente ao periodonto relacionado ao esmalte observamos reabsorção contínua do osso alveolar, com maior intensidade na região mais próxima à crista. Essas características podem ser o resultado das forças compressivas produzidas pela oclusão, pelo crescimento e movimento eruptivo do dente em seu alvéolo (Irie *et al*, 1990a). Segundo Steigman *et al* (1993), as forças funcionais de compressão atuam principalmente sobre a região mais incisal e a apical do alvéolo.

Em nosso laboratório, foi observado que o incisivo normal de rato cresce mais rapidamente no sentido lábio-lingual do que no sentido mésio-distal (informação pessoal) indicando que maior reabsorção óssea na face labial do alvéolo é necessária para a acomodação dos novos tecidos formados.

Após o período de contenção da erupção do incisivo, a alteração mais evidente na remodelação do alvéolo ocorreu na região mais próxima à crista alveolar onde mostramos a conversão da reabsorção para formação óssea na face labial adjacente ao PRE, pela presença de duas ou três linhas fluorescentes nessa região. A análise dos cortes histológicos mostrou nítida redução da quantidade de osteoclastos e formação de uma camada de osteoblastos sobre o osso, principalmente na metade mesial da labial.

Para explicar essas mudanças podemos considerar que: 1) a instalação da contenção causou uma força inicial no sentido lingual promovendo uma inclinação do incisivo, que conduziu à expansão do PRE e compressão do ligamento periodontal na região mais próxima à crista alveolar (Terespolsky *et al*, 2002). A expansão do PRE pode ter promovido redução das forças de compressão do tecido sobre a parede do alvéolo; 2) a contenção impediu os movimentos verticais do dente, reduzindo ou eliminando as forças de oclusão e do movimento eruptivo do dente sobre o alvéolo; 3)

com a interrupção da erupção a formação de novos tecidos dentais ocorreu em direção à basal, sendo que o diâmetro do dente na região incisal não aumentou, eliminando as forças de compressão causadas pelo crescimento normal; 4) alterações nos tecidos que compõem o PRE podem modificar os fatores que controlam o recrutamento e o metabolismo das células que participam da remodelação óssea.

Gerlach *et al* (2002) também mostraram formação óssea na metade mesial da face labial do alvéolo em incisivos hipofuncionais, que apresentaram uma taxa de erupção duas vezes maior que a do controle. Esses resultados semelhantes encontrados nos incisivos contidos e nos hipofuncionais sugerem que o movimento eruptivo não interfere na remodelação óssea na face labial do alvéolo próximo à crista.

Estudos com a ressecção da base odontogênica proliferativa do incisivo mostraram que a atividade de osteoclastos é substituída por atividade osteoblástica no espaço do alvéolo formado pela erupção do incisivo como resultado da ausência de forças compressivas geradas pelo crescimento e movimento eruptivo (Irie *et al*, 1990b).

Nos incisivos contidos, a deposição de tecidos dentais mineralizados na região odontogênica indicou o crescimento do dente em direção basal, causando maior reabsorção na face interna do alvéolo e uma grande aposição compensadora na face externa da mandíbula durante a 2ª semana de contenção, com conseqüente aumento do diâmetro do alvéolo. Após a remoção da contenção, os incisivos que recuperaram a taxa de erupção normal não apresentaram tecidos dentais mineralizados nessa região e o diâmetro do alvéolo foi restabelecido quando comparamos ao controle. Esses resultados evidenciam a influência das forças de compressão mediadas pelo dente no processo de remodelação óssea.

No nosso modelo de estudo utilizamos um fio ortodôntico rígido que produziu uma quantidade de força inicial não conhecida logo após a instalação da contenção. A variação dessa força linguo-intrusiva aplicada ao incisivo pode ter induzido os diferentes graus de recuperação da taxa de erupção dos incisivos observados no grupo B, também mostrado em outros estudos (Steigman *et al*, 1983; Shimada *et al*, 2003). Em cinco animais desse grupo, os incisivos recuperaram a taxa de



erupção normal ao final das 10 semanas após a remoção da contenção, sendo que em dois deles a recuperação se deu já na 6ª semana.

Os incisivos recuperados apresentaram características de remodelação óssea semelhantes às do controle quando analisados por microscopia de fluorescência. A ausência de linhas de marcação de aposição óssea na face labial do alvéolo adjacente ao PRE e a interrupção das linhas de marcação da aposição externa em toda esta região indicam que houve retorno ao processo de reabsorção contínua na labial do alvéolo. A grande distância entre as linhas de marcação de aposição externa e a superfície da mandíbula mostrou que todo o osso da labial é substituído por novo osso após um período de tempo (Gerlach *et al*, 2002). Radiograficamente, os tecidos dentais mineralizados, o diâmetro da polpa e o espaço do ligamento periodontal também mostraram semelhança com o controle.

Os incisivos dos animais do grupo B com taxa diária de erupção parcialmente recuperada (entre 0,2 e 0,4mm) apresentaram pouca ou nenhuma lesão nos tecidos dentais e periodontais. Entretanto, dentro dos limites do nosso estudo, não foi possível determinar se alguma alteração nesses tecidos ainda estava presente. Cortes seriados de toda a extensão da mandíbula são necessários para verificar as condições de normalidade, ou o grau de recuperação desses tecidos.

Nos incisivos com baixa taxa de erupção (<0,2mm) observamos a presença de linhas e traços de marcação fluorescente na face labial do alvéolo, indicando que esses animais não recuperaram as características normais de remodelação óssea nessa região. Não foi possível determinar se houve formação óssea durante o período de recuperação, ou se houve falha no processo de reabsorção óssea. A injeção de outros marcadores fluorescentes durante o período de recuperação poderia ajudar a esclarecer esta questão, assim como determinar a quantidade de aposição óssea nas faces do alvéolo relacionadas ao ligamento periodontal nos diferentes graus de erupção encontrados.

O grande aumento da espessura do ligamento periodontal na lingual do incisivo nas regiões 2 e 3, observadas também no período de contenção, e a redução do

espaço do PRE na labial, podem ser atribuídas a uma mudança na angulação do dente provocada pela contenção (Steigman *et al*, 1987; Terespolsky *et al*, 2002). Segundo Brin *et al* (1990), a morfologia do alvéolo de incisivo de rato pode sofrer maior angulação após a aplicação de forças ortodônticas que induzem a deformação do compartimento progenitor não mineralizado e/ou iniciar uma taxa diferencial de desenvolvimento dos elementos que formam o dente.

A variação da taxa de erupção entre os incisivos do grupo B pode também indicar vários níveis de dano aos tecidos dentais e periodontais, visto que, maior quantidade de injúrias nesses tecidos foram observadas nos incisivos com menor taxa de erupção.

As alterações observadas no órgão do esmalte durante o período de contenção mostraram a perda de altura dos ameloblastos e da camada papilar, constituindo um epitélio cúbico ou aplainado que se estende até a região do primeiro molar. Nos incisivo do grupo B com taxa diária de erupção menor que 0,2mm, esse epitélio reduzido se estendeu até a região 3. Em 1944, Arce *et al* relataram que a atrofia do órgão do esmalte em dentes com prevenção da erupção é diretamente proporcional ao tempo de contenção do incisivo. Essas alterações podem ser derivadas das forças aplicadas ao dente ou ser consequência da continuidade do ciclo de vida normal das células do órgão do esmalte. Outros danos em várias localizações ao longo do dente, incluindo o desaparecimento da camada papilar, lise da camada de ameloblastos, reabsorções, calcificação do esmalte interrompida, encurtamento da zona secretora da matriz, foram também descritos por outros autores (Kirkham *et al*, 1993; Steigman *et al*, 1993; Katzhendler & Steigman, 1999).

As injúrias em dentina e esmalte ocorreram tanto no período de contenção quanto no período de recuperação da erupção (grupos A e B). A formação de dobras na dentina e no esmalte foi mais evidente nas regiões mais basais, resultado do desequilíbrio entre a formação contínua dos tecidos dentais e a taxa de erupção do dente, ocorrendo o “sanfonamento” dos tecidos (Arce *et al*, 1944). As reabsorções de dentina também estavam concentradas nas regiões incisal e basal que recebem maior

impacto das forças (Steigman *et al*, 1993; Katzhendler & Steigman, 1999; Terespolsky *et al* 2002).

A presença de anquilose em um dos animais do nosso estudo, marcada com uma linha fluorescente no tecido ósseo em contato direto com o dente mostra que esse fenômeno ocorreu durante o período de contenção. Essa observação ao final do longo período do experimento e a taxa diária de erupção praticamente nula desse dente (0,006mm,  $\pm 0,031$ mm) pode indicar que a anquilose ocorreu de modo irreversível, impedindo os movimentos do dente em seu alvéolo e, portanto impedindo a ação das forças mastigatórias. Neste caso, a anquilose pode ter sido provocada por uma força excessiva inicial na direção lingual do dente, após a colocação da contenção. Segundo King *et al* (1999), a anquilose irreversível ocorre quando há dano em grandes áreas do ligamento periodontal e pouca quantidade remanescente viável deste tecido.

Katzhendler & Steigman (1999) sugerem que novas lesões dentais e periodontais podem ser criadas durante o período de recuperação e atribuíram ao fato de que o contínuo *turnover* alveolar não correspondeu ao movimento do dente. A taxa e direção do *turnover* do osso alveolar regulam o retorno das dimensões do ligamento periodontal aos valores normais (Terespolsky *et al*, 2002), porém várias direções da remodelação do alvéolo sofrem muitas reversões durante o período de recuperação do tecido (Steigman *et al*, 1993).

Em 1989, Steigman *et al* num estudo em incisivos hipo e hiperfuncionais, concluíram que o alvéolo aumenta sobre todas as demandas funcionais, refletindo um total de mudanças dentais e periodontais. Assim, o osso alveolar próprio parece não responder diretamente à função oclusal ou ao movimento eruptivo, mas se remodela de acordo com as mudanças ocorrendo na morfologia do dente e do peridonto.



## **5 CONCLUSÃO**

O processo de remodelação óssea do alvéolo do incisivo de rato responde às forças que agem sobre o tecido ósseo, principalmente aquelas geradas pelo crescimento e influenciados pelas alterações nos tecidos dentais e periodontais no interior do alvéolo.

## REFERÊNCIAS\*

Arce C, Erausquin J. Supresión experimental de la erupción en los incisivos de la rata. *Rev Odontol (B Aires)*. 1944; 32: 525-40.

Berkovitz, BKB. The effect of root transection and partial root resection on the unimpeded eruption rate of the rat incisor. *Arch Oral Biol*. 1971 Sep; 16(9): 1033-43.

Brin I, Michaeli Y, Steigman S. Long-term effects of orthodontic forces on the morphology of the rat-incisor socket and its location in the mandible. *J Dent Res*. 1990 Dec; 69(12): 1834-8.

Cahill DR, Marks SCJr. Tooth eruption: evidence for the central role of the dental follicle. *J Oral Pathol Med*. 1980 Jul; 9(4): 189-200.

Gerlach RF, Toledo DB, Fonseca RB, Novaes PD, Line SR, Merzel J. Alveolar bone remodelling pattern of the rat incisor under different functional conditions as shown by minocycline administration. *Arch Oral Biol*. 2002 Mar; 47(3): 203-9.

Gorski JP, Marks SCJr. Current concepts of biology of tooth eruption. *Crit Rev Oral Biol Med*.. 1992; 3(3): 185-206. Review.

Grier RL IV, Wise GE. Inibition of tooth eruption in the rat by a bisphosphonate. *J Dent Res*. 1998 Jan; 77(1): 8-15.

Irie K, Ozawa H. Relationships between tooth eruption, occlusion and alveolar bone resorption: cytological and cytochemical studies of bone resorption on rat incisor alveolar bone facing the enamel. *Arch Histol Cytol*. 1990a Dec; 53(5): 497-509.

Irie K, Ozawa H. Relationships between tooth eruption, occlusion and alveolar bone resorption: histochemical and cytological studies of bone remodeling on rat incisor alveolar bone facing the enamel after root resection. *Arch Histol Cytol*. 1990b Dec; 53(5): 511-22.

Katzhendler E, Steigman S. Effect of repeated orthodontic treatment on the dental and periodontal tissues of the rat incisor. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 1999 Dec; 116(6): 642-50.

---

\* De acordo com a norma da UNICAMP/FOP baseada no modelo Vancouver. Abreviatura dos periódicos em conformidade com o Medline.

King GN, Hughes FJ. Effects of occlusal loading on ankylosis, bone, and cementum formation during bone morphogenetic protein-2-stimulated periodontal regeneration in vivo. *J Periodontol*. 1999 Oct; 70(10): 1125-35.

Kirkham J, Robinson C, Phull JK, Shore RC, Moxham BJ, Berkovitz BK. The effect of rate of eruption on periodontal ligament glycosylaminoglycan content and enamel formation in the rat incisor. *Cell Tissue Res*. 1993 Nov; 274(2): 413-9.

Marks SC Jr. Pathogenesis of osteopetrosis in the *ia* rat: reduced bone resorption due to reduced osteoclast function. *Am J Anat*. 1973 Oct; 138(2): 165-89.

Marks SC Jr, Cahill DR. Regional control by the dental follicle of alterations in alveolar bone metabolism during tooth eruption. *J Oral Pathol*. 1987 Apr; 16(4): 164-9.

Marks SC Jr, Cahill DR. Experimental study in the dog of the non-active role of the tooth in the eruptive process. *Arch Oral Biol*. 1984; 29(4): 311-22.

Marks SC Jr, Cielinski MJ, Sundquist K, Wise GE, Gorski JP. The role of bone resorption in tooth eruption. In: Davidovitch, Z, editor. *The Biological Mechanisms of Tooth Eruption, Resorption and Replacement by Implants*. Harvard Society for Advance of Orthodontics, Boston, 1994 p. 483-88.

Marks SC Jr, Schroeder HE. Tooth eruption: theories and facts. *Anat Rec*. 1996 Jun; 245(2): 374-93. Review.

Merzel J, Novaes PD, Furlan S. A histological study of root-resected and root-transected rat incisors when eruption ceases, shortly before they are exfoliated from the socket. *Arch Oral Biol*. 2000a Apr; 45(4): 315-22.

Merzel J, Novaes PD, Furlan S. The effects of local trauma to the enamel-related periodontal tissues in the eruption of the rat incisor. *Arch Oral Biol*. 2000b Apr; 45(4): 323-33.

Moxham BJ. What the structure and the biochemistry of the periodontal ligament tell us about the mechanisms of tooth eruption. In: Davidovitch, Z, editor. *The Biological Mechanisms of Tooth Eruption, Resorption and Replacement by Implants*. Harvard Society for Advance of Orthodontics, Boston, 1994. p. 437-50.

Moxham BJ, Berkovitz BKB. Interactions between thyroxine, hydrocortisone and cyclophosphamide in their effects on the eruption of the rat mandibular incisor. *Arch Oral Biol*. 1983; 28(12): 1083-7.

Moxham BJ, Berkovitz BKB. The periodontal ligament and physiological tooth movements. In: Berkovitz, BKB, Moxham BJ, Newman HN, editors. *The Periodontal Ligament in Health and Disease Mosby-Wolfe*, London, 1995; p. 183-214.

Shimada A, Shibata T, Komatsu K, Chiba M. The effects of intrusive loading on axial movements of impeded and unimpeded rat incisors: estimation of eruptive force. *Arch Oral Biol*. 2003 May; 48(5): 345-51.

Steigman S, Boym R, Weinreb M, Michaeli Y. Dynamics of tissue changes found after mechanical loading of the rat incisor. II. A three-dimensional longitudinal study of the histopathologic aspects. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 1993 Nov; 104(5): 492-505.

Steigman S, Michaeli Y, Weinreb M Jr. Structural changes in the dental and periodontal tissues of the rat incisor following application of orthodontic loads. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 1987 Jan; 91(1): 49-56.

Steigman S, Michaeli Y, Yitzhaki M, Weinreb M. A three-dimensional evaluation of the effects of functional occlusal forces on the morphology of dental and periodontal tissues of the rat incisor. *J Dent Res*. 1989 Aug; 68(8): 1269-74.

Terespolsky MS, Brin I, Harari D, Steigman S. The effect of functional occlusal forces on orthodontic tooth movement and tissue recovery in rats. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2002 Jun; 121(6): 620-8.

---

---

**ANEXO**



Universidade Estadual de Campinas  
Instituto de Biologia



CEEA-IB-UNICAMP

**Comissão de Ética na Experimentação Animal  
CEEA-IB-UNICAMP**

**CERTIFICADO**

Certificamos que o Protocolo nº **543-2**, sobre "**REMODELACÃO ÓSSEA DO PERIODONTO DE INCISIVO DE RATO NAS CONDIÇÕES DE ERUPÇÃO NORMAL E ALTERADA. ESTUDO COM MARCADORES FLUORESCENTES**" sob a responsabilidade de **Prof. Dr. Pedro Duarte Novaes/Cristiane Ribeiro Salmon** está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), tendo sido aprovado pela Comissão de Ética na Experimentação Animal (CEEA)-IB-UNICAMP em reunião de 04 de Julho de 2003.

**CERTIFICATE**

We certify that the protocol nº **543-2**, entitled "**BONE REMODELLING OF INCISOR RAT PERIODONTIUM IN NORMAL AND MODIFIED ERUPTION, STUDY WITH FLUORESCENT MARKERS**", is in agreement with the Ethical Principles for Animal Research established by the Brazilian College for Animal Experimentation (COBEA). This project was approved by the institutional Committee for Ethics in Animal Research (State University of Campinas - UNICAMP) on July 4, 2003.

Profa. Dra. Liana Verinaud  
Presidente - CEEA/IB/UNICAMP

Campinas, 04 de Julho de 2003.

Fátima Alonso  
Secretária - CEEA/IB/UNICAMP